

**DER IN VIVO EFFEKT EINIGER ZYTOSTATIKA
AUF DIE ENZYMAKTIVITÄT VON GW-39**

von
Wolfgang Ernstberger
aus
Amberg



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546303_0042

Aus der Klinik für Innere Medizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. L. Demling

DER IN VIVO EFFEKT EINIGER ZYTOSTATIKA AUF DIE ENZYMAKTIVITÄT VON GW-39

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Wolfgang Ernstberger
aus
Amberg

Gedruckt mit der Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Professor Dr. A. Kröncke
Referent: Professor Dr. L. Demling

Tag der mündlichen Prüfung: 21. 1. 1969

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. S. Witte
und Herrn Dr. Dr. Goldenberg für die Stellung
des Themas und für fördernde Hinweise während
der Anfertigung der Arbeit.

Des weiteren gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. med.
L. Demling, Direktor der Klinik für Innere
Medizin der Universität Erlangen-Nürnberg,
für die Erlaubnis, die geschilderten Unter-
suchungen innerhalb der Klinik durchzuführen.

I N H A L T S Ü B E R S I C H T

	<u>Seite</u>
A Einleitung	1
B Material und Methodik	2-6
C Ergebnisse	6
I. Tabellen 1 - 10	7-16
II. deren Auswertung	17-20
D Diskussion	20
I. der Enzyme	20-23
II. der Zytostatika	23-27
III. Ausblick	27-28
E Zusammenfassung	28-29
F Literatur	29-39
Lebenslauf	

A. E i n l e i t u n g

Seit Bekanntwerden der Wirkung des Stickstofflostes auf das Tumorstadium kam es zur Entwicklung einer großen Anzahl von Stoffen, die zur chemischen Behandlung der malignen Geschwülste dienen sollen. Diese Forschungen haben schon zu einem Erfolg geführt; denn bei bis zu 30 % der Tumorträger läßt sich durch die Chemotherapie eine gewisse Besserung erreichen (71). Die angewandten Substanzen bekämpfen nicht die bis jetzt unbekannte auslösende Ursache des entarteten Zellwachstums, sondern sie wirken nur auf den erhöhten Stoffwechsel dieser entarteten Zellen.

Um die Gesamtwirkung von zytostatischen Antitumorsubstanzen beurteilen zu können, braucht man deshalb Methoden, mit denen man die Stoffwechsellage der Tumorzellen überprüfen kann. Dazu eignen sich in besonderem Maße Enzymuntersuchungen, da verschiedene Enzyme im Tumorgewebe sehr deutliche Unterschiede zum Normalgewebe zeigen (53). Insbesondere zeigt der Energiestoffwechsel Veränderungen (91). So werden seine Enzyme auch zum Zwecke der Diagnostik untersucht, wie zum Beispiel im Serum (62), im Urin (20), im Vaginalsekret (3) und in der Punktatflüssigkeit (16).

In vorliegender Arbeit wurden die Wirkungen verschiedener Zytostatika auf die Enzyme Laktatdehydrogenase (LDH), Malatdehydrogenase (MDH), Glukose-6-phosphatdehydrogenase (G6PD) und 6-Phosphoklukonatdehydrogenase (6PGD) untersucht. Die Untersuchungen stellen eine Fortsetzung der Arbeiten von Goldenberg, Witte und Mitarbeitern (26) dar, in denen die in vivo Wirkungen verschiedener Zytostatika auf die mit dem Krebszyklus in Verbindung stehenden Enzyme LDH, MDH und die Enzyme des Pentosephosphatzyklus G6PD, 6PGD erforscht worden sind.

B. Material und Methodik

Als Untersuchungsmaterial diente ein auf die Hamsterbackentasche transplantiertes menschliches Dickdarmadenokarzinom GW-39 (28). Dieser Tumorstamm ist mit einer Angehrate von 90 % - 100 % (28) in großer Gleichförmigkeit züchtbar, so daß auch über längere Zeit vergleichbare Behandlungsversuche durchgeführt werden konnten. Die Gewinnung und Züchtung des heterotransplantierten Tumors GW-39 wurde 1967 von Goldenberg beschrieben (30). Therapeutisch kamen folgende Zytostatika zur Anwendung:

1. Antibiotika: Actinomycin C (Sanamycin), Actinomycin D (Cosmegen),
2. Alkylantien: Endoxan, Trenimon,
3. Antimetaboliten: Fluorouracil, Cytosin-Arabinosid,
4. Antimitotika: Proresid (SP-I).

Die Chemotherapie erfolgte, wie bei Goldenberg 1967 (29) dargestellt ist. Der 17-20 Tage alte Transplantations-tumor wurde aus der Hamsterbackentasche herausgeschnitten, mit der Hand homogenisiert und mit Penicillin (100 E/ml) und Streptomycin (0,06 mg/ml) aufgeschwemmt. Je 0,1 ml der 20%-igen Zellsuspension (Gewicht/Volumen) wurden in die Backentaschen der nichtvorbehandelten, etwa 50 - 60 g schweren Goldhamster (*Mesocricetus auratus*) injiziert. Das Tumorstwachstum konnte durch Volumenvergleich bei ausgestülpter Backentasche leicht verfolgt werden. Die intraperitoneale Zytostatika-Applikation begann am Tag der 2. Tumormessung und erstreckte sich über die folgenden 7 Tage. 24 Stunden nach Therapieende war die letzte Tumorstwachstumsmessung. Aus den regelmäßigen, vor und während der Therapie vorgenommenen Tumorstwachstumsmessungen errechnet sich die Wachstumssthemmung wie folgt:

1. Berechnung des Wachstumsfaktors jeder Behandlungsgruppe:

WF (Wachstumsfaktor) =

Mittelwert der Tumorstwachstumsvolumina nach Versuch

Mittelwert der Tumorstwachstumsvolumina vor Versuch

2. Berechnung der Wachstumshemmprozente:

$$\text{WH (Wachstumshemmung)} = \frac{100 - (W_F \text{ Therapie})}{(W_F \text{ Kontrolle})} \times 100$$

Nach der soeben erwähnten letzten Tumolvolumenmessung wurden die Tumoren und die Hamsterlebern zur Enzymbestimmung in folgender Weise aufgearbeitet (siehe auch Goldenberg et al. (26)):

Nach Evipannarkose und Durchquetschen des Hamsterhalsrückemarks mit einer Pinzette wurden die transplantierten Tumoren aus den Backentaschen schnell freipräpariert. Dies erfolgte in der Art, daß (1.) kein Gewebe der Hamsterbackentasche an den Tumoren zurückblieb und (2.) alles erreichbare Gefäßbindegewebe der meist gut durchbluteten Tumoren entfernt wurde. Die sauber präparierten Tumoren kamen sofort in vorher beschriftete Reagenzgläser, überschichtet mit einigen ml eiskalten Phosphatpuffers (Phosphatpuffer: 0,05 M; K_2HPO_4/KH_2PO_4 , eingestellt auf pH 7,5) im Eiswasserbad (0 Grad) zur Aufbewahrung, ebenso die Hamsterlebern.

Die Tumoren und Lebern wurden nun, nach zweimaligem Waschen mit eiskaltem Phosphatpuffer, auf einem Filtrierpapier abgetrocknet und sodann gewogen. Das Tumorgewicht betrug durchschnittlich 0,2 - 0,5 Gramm. Zu den Tumoren wurde das 20-fache des Gewichts an Phosphatpuffer, zu den Lebern mit einem Gewicht von 2 - 3 Gramm nur das 5-fache des Gewichts an Phosphatpuffer zugesetzt. Die Gewebestückchen wurden bei Kühlung in einem Eiswasserbad 2 mal 45 sec. homogenisiert (Ultraturrax, 24000 Umdrehungen/min.). Nach 20-minütigem Zentrifugieren bei 10000 g in der Kühlzentrifuge (4°) wurde der klare Überstand in Schliffgläschen abgegossen, gut mit einem Glasstopfen verschlossen und im Kühlschrank bei 4° aufbewahrt. Bei einem Versuch mit 40 - 50 Gewebeproben benötigt man vom Töten der Tiere an gerechnet bis zum Erhalten des zentrifugierten Homogenisats 6 Stunden.

Da die Enzymaktivitäten bei der Lagerung ziemlich schnell abnehmen (87,7), muß die Aktivitätsbestimmung rasch erfolgen. Am empfindlichsten gegen die Lagerung sind die G6PD und die MDH, weniger empfindlich LDH und 6PGD. Deshalb erfolgte die Bestimmung der G6PD und MDH noch am ersten Tag der Tumoraufarbeitung, die der LDH und 6PGD am folgenden Tag. In jedem Fall wurden sämtliche Enzyme innerhalb der ersten 36 Stunden bestimmt.

Bestimmung der Enzymaktivitäten:

Für die Bestimmung der Enzyme LDH, MDH, G6PD wurden die Biochemica-Test-Combinationen der Firma C. F. Boehringer u. Sohn GmbH, Mannheim, verwandt. Die Bestimmung der 6PGD erfolgte nach Golowick und Kaplan (14). Dabei waren die Extinktionsänderungen in den abgelesenen 2 ersten Minuten linear. Meßbedingungen waren: Homogenisatverdünnungen, die etwa eine Extinktionsdifferenz von 0,020 - 0,030/min. ergeben; Eppendorf-photometer, Filter 366 nm; 1 cm lange Glasküvette, Volumen etwa 3 ml; konstant 25° Ablesetemperatur mittels eines Wasserdurchflußmantels um die Küvette.

Ansatzreagentien:

1. G6PD: Da die Enzymaktivität der G6PD im Tumorhomogenisat gering ist, wurde der dem Serum entsprechende Ansatz verwendet.

2,0 ml Lösung 1 (0,05 M TRAP, pH 7,6; 0,005 M
Äthylendiamintetraacetat),

0,1 ml Lösung 2 (0,01 M TPN),

1,00 ml Tumorhomogenisat,

0,05 ml Lösung 3 (0,031 M Glucose6phosphat).

Vom Leberhomogenisat wurden im Ansatz 0,1 ml Homogenisat + 0,9 ml Phosphatpuffer verwandt.

2. MDH: Die Enzymaktivität der MDH ist im Tumorhomogenisat höher als im Serum; deshalb erfolgte im Ansatz eine Verdünnung von 0,02 oder 0,03 ml Homogenisat + 0,08 bez. 0,07 ml Phosphatpuffer.

3,08 ml Lösung 1 (0,1 M Phosphatpuffer pH 7,4;

0,042 M Aspartrat),

0,05 ml Lösung 2 (0,065 M α -Ketoglutarat),

0,05 ml Lösung 3 (0,012 M DPNH),

0,05 ml Lösung 4 (0,1 mg GOT/ml),

nach 5 Minuten dazu:

0,02 (bez. 0,03) ml Homogenisat,

Leber: Der Homogenisatüberstand von 1 Gramm Leber + 4 ml Puffer wurde 1 + 19 verdünnt, davon Ansatz von 0,02 ml im MDH-Enzymtest.

3. LDH: Homogenisatmenge entsprechend wie bei der MDH Bestimmung,

3,07 ml Lösung 1 (0,05 M Phosphatpuffer pH 7,5;

0,003 M Pyruvat),

0,05 ml Lösung 2 (0,009 M DPNH),

0,03 ml Homogenisat.

Leber: 0,03 ml des 1 + 19 verdünnten Homogenisats.

4. 6PGD: 0,5 bez. 1,0 ml Homogenisat; 366 nm; Küvette 1 cm, Temp. 25°; 0,25 ml Wasser,

0,25 ml Glycyl-Glycin-Puffer 0,04 M,

0,20 ml Mg Cl₂ 1,0 M,

0,20 ml 6-Phosphogluconat 0,02 M,

0,10 ml TPN 5,2 x 10⁻³ M,

1,00 ml Homogenisat.

Leber: 0,1 ml Homogenisat + 0,9 ml Phosphatpuffer.

Berechnung: $\Delta E = 3,3 \times 10^6 \text{ cm}^2/\text{mol} \times 1 \text{ u mol}/\text{cm}^3 \times 1 \text{ cm}$
mU /ml Homogenisat = ΔE (Messung) x 606.

Stickstoffbestimmung:

Der Stickstoff im Homogenisatüberstand wurde nach der Methode von Kjeldahl bestimmt. Es wurden 2 ml oder 1 ml des Tumorphomogenisats und 0,5 ml des Leberhomogenisats mit 1 ml konz. H₂SO₄ und etwas CuSO₄ + K₂SO₄ verascht. In der Halbmikroapparatur von Parnas-Wagner wurde nach Zugabe von 33 % NaOH bis zur Alkalisierung gegen 10 ml $\frac{n}{100}$ H₂SO₄ plus drei Tropfen Tashiro-Mischindikator der Ammoniak des veraschten Homogenisats überdestilliert. Etwa 10 Min. später, nach Beendigung der Destillation wurde in der Vorlage der Überschuß der Säure mit $\frac{n}{100}$ NaOH zurücktitriert.

Berechnung: 1 ml durch Ammoniak verbrauchtes $\frac{n}{100}$

H_2SO_4 entspricht 0,14 mg Stickstoff.

Die Enzymaktivitäten der einzelnen Tumoren und Lebern wurden in Internationalen Einheiten (IU) berechnet, und um individuelle Proteinschwankungen der Tumoren auszugleichen auf den Stickstoffgehalt jedes Homogenisats bezogen (spez. Aktivität).

Auswertung:

Von den Stickstoffwerten (mgN pro ml Homogenisat) und von den Enzymaktivitäten, bezogen auf 1 mg N (IU pro 1 mg N) jedes Tumor- und Leberhomogenisats, wurde (1.) der Mittelwert $\bar{x}$ bestimmt, (2.) die Standardabweichung des Wertes nach $s = \sqrt{\frac{(x - \bar{x})^2}{N - 1}}$. Gemäß dem Studenttest erfolgte die Signifikanzabschätzung des Unterschiedes d ($d = M_c - M_t$) einer behandelten Gruppe (Mittelwert: M_t) zur Kontrollgruppe (Mittelwert: M_c) nach der Formel: Prüfschranke $t_v = d/s_{vd}$, wobei v = Anzahl der Kontrollen + Behandelten - 2 und:

$$s_{vd} = \sqrt{\frac{(x_c - \bar{x}_c)^2 + (x_t - \bar{x}_t)^2}{N_c + N_t - 2} \times \frac{N_c + N_t}{N_c - N_t}}$$

Als signifikant wurden Werte mit $(P) < 0,05$ betrachtet.

C. E r g e b n i s s e

I Tabellen

Auf den folgenden 10 Tabellen sind die Ergebnisse zusammengefaßt. Auf diesen Tabellen bedeutet:

"Tumorzahl" bez. "Organanzahl" Anzahl der Tumoren bez.

Lebern, die im jeweiligen Versuch untersucht wurden;

"mg N/ml" Stickstoffgehalt in mg pro ml Homogenisat;

"mU LDH/N" Millieinheiten Lactatdehydrogenase pro mg Stickstoff;

"mU MDH/N" Millieinheiten Malatdehydrogenase pro mg Stickstoff;

"mU G6PD/N" Millieinheiten Glucose-6-Phosphatdehydrogenase pro mg Stickstoff;

"mU 6PGD/N" Millieinheiten 6-Phosphogluconatdehydrogenase pro mg Stickstoff.

Tabelle 1

Tumorenzymveränderungen bei Actinomycin-D-Behandlung.

Datum	Wachstums- hemmung	Tumormasse	mg N/ml	Tumormasse	mU LDH/N	Tumormasse	mU MDH/N	Tumormasse	mU G6PD/N	Tumormasse	mU 6PGD/N
11. 2.66											
Kontr.		3	0,284±0,071	3	6183+ 632	3	5836+ 454	3	73,9+ 12,2		
90x		3	0,190±0,046	3	4815+ 294	3	6046+1750	3	33,8+ 18,3		
(P)			<0,10		<0,05		<0,90		<0,05		
Hemm%			33%		22%		-3%		54%		
14. 3.66											
Kontr.		7	0,45±0,16	7	6676+1630	7	8955+2180	7	34,3+ 10,6		
60x		12	0,33±0,08	12	4470+ 891	12	6090+1500	12	9,9+ 5,2		
(P)			<0,05		<0,001		<0,005		<0,001		
Hemm%			26%		33%		32%		71%		
24. 6.66											
Kontr.		6	0,24±0,07	6	4284+ 515	6	6159+ 514	6	46,9+ 12,1	6	67,6+25,7
70x		6	0,21±0,07	7	2464+647	7	3237+1610	7	11,0+ 9,5	6	17,2+11,6
(P)			<0,30		<0,001		<0,005		<0,001		<0,005
Hemm%	65%		12%		43%		47%		76%		74%
27. 7.66											
Kontr.		6	0,29±0,05	6	4547+ 492	6	5049+ 976	6	72,5+15,5	6	137,0+27,2
60x		7	0,19±0,06	7	2171+1140	7	2696+1680	6	17,3+ 7,7	7	77,0+42,8
(P)			<0,01		<0,001		<0,02		<0,001		<0,02
Hemm%	73%		34%		52%		47%		76%		36%
22. 1.67											
Kontr.		6	0,325±0,031	6	7864+2490	6	7604+ 839	6	127,7+20,8	4	136,0+61,4
60x		4	0,178±0,028	4	4625+1890	4	4640+1360	4	32,5+12,6	2	72,0+ 9,9
(P)			<0,001		<0,10		<0,005		<0,05		<0,30
Hemm%	52%		45%		41%		39%		74%		47%
40x		4	0,194±0,016	4	4083+ 503	4	4455+ 840	4	44,0+15,7	3	93,3+28,7
(P)			<0,001		<0,02		<0,001		<0,10		<0,40
Hemm%	48%		40%		48%		41%		69%		31%
16. 3.67											
Kontr.		5	0,295±0,014	5	4754+ 596	5	6879+ 518	5	89,6+ 9,2	5	109,1+12,4
60x		6	0,185±0,038	6	3403+1007	6	4225+ 718	6	34,8+14,2	5	89,9+20,8
(P)			<0,001		<0,005		<0,001		<0,001		<0,20
Hemm%	56%		37%		28%		37%		61%		18%
40x		5	0,184±0,027	5	3698+ 871	5	5528+1088	5	43,2+15,0	5	75,7+11,8
(P)			<0,001		<0,50		<0,05		<0,005		<0,005
Hemm%	33%		38%		22%		20%		52%		30%
26. 4.67											
Kontr.		7	0,305±0,046	7	4877+ 263	7	7173+ 307	7	121,0+37,3	7	98,1+20,1
50x		8	0,264±0,053	8	2792+ 663	8	5073+1470	8	36,7+ 3,6	7	68,7+17,5
(P)			<0,20		<0,001		<0,005		<0,001		<0,02
Hemm%	59%		13%		43%		29%		70%		30%
30x		5	0,236±0,028	5	3730+ 427	5	6373+ 833	5	52,8+19,5	5	67,1+ 7,3
(P)			<0,02		<0,001		<0,05		<0,02		<0,01
Hemm%	32%		22%		23%		11%		56%		32%
9. 6.67											
Kontr.		9	0,298±0,04	9	4404+ 496	9	7101+ 840	9	114,0+45,9	9	129,7+37,1
50x		7	0,175±0,031	7	3343+1160	7	5821+2080	6	33,7+ 6,3	7	81,4+15,6
(P)			<0,001		<0,10		<0,20		<0,005		<0,01
Hemm%	70%		41%		24%		18%		70%		37%

Tabelle 2

Tumorenzymveränderungen bei Sanamycin-Behandlung

Datum	Dosis $\mu\text{g/kg}$	Signi- fikanz	Hemm%	Wachstums- hemmung Tumorenzahl	mg N/ml	Tumorenzahl	mU LDH/N	Tumorenzahl	mU MDH/N	Tumorenzahl	mU G6PD/N	Tumorenzahl	mU 6PGD/N
11. 2.66													
Kontr.					3 0,284+0,07	3 6183+ 632	3 5836+ 454	3 73,9+12,6					
100*					6 0,188+0,03	6 5237+1380	6 5912+ 711	6 36,8+13,7					
(P)					<0,025	<0,80	<0,90	<0,01					
Hemm%					33%	15%	-1%	50%					
14. 3.66													
Kontr.					7 0,45 +0,16	7 6676+1630	7 8955+2180	7 34,3+10,6					
100*					6 0,25+ 0,06	6 5245+1230	6 6503+1450	6 7,8+ 1,7					
(P)					<0,02	<0,20	<0,05	<0,001					
Hemm%					44%	21%	27%	77%					
24. 6.66													
Kontr.					6 0,24 +0,07	6 4284+ 515	6 6159+ 514	6 46,9+12,1	6 67,6+25,7				
90*					8 0,20 +0,07	8 3614+1740	8 4818+1930	8 29,6+14,5	8 45,3+22,2				
(P)					<0,30	<0,40	<0,20	<0,05	<0,20				
Hemm%				57%	11%	15%	22%	36%	32%				
6. 10.66													
Kontr.					7 0,37 +0,05	7 4852+ 430	7 8049+ 793	7 65,4+13,8	7 105,6+10,6				
60*					6 0,26+ 0,03	5 3235+ 339	5 5555+ 93	5 40,8+18,0	5 72,5+ 7,3				
(P)					<0,01	<0,001	<0,001	<0,025	<0,001				
Hemm%				55%	29%	33%	31%	37%	31%				
90*					6 0,26 +0,03	6 2631+ 487	6 4981+ 670	6 37,2+ 6,0	6 64,0+ 7,2				
(P)					<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001				
Hemm%				56%	29%	45%	37%	43%	39%				
17. 11.66													
Kontr.					5 0,36 +0,12	5 4334+ 496	5 5262+ 595	5 86,7+12,2	5 121,9+27,6				
60*					6 0,29+ 0,05	6 3732+ 605	6 4587+ 787	6 37,9+ 4,6	6 66,5+ 5,6				
(P)					<0,30	<0,20	<0,20	<0,01	<0,001				
Hemm%				47%	19%	14%	12%	56%	45%				
12. 1.67													
Kontr.					6 0,325+0,031	6 7864+2490	6 7604+ 839	6 127,7+ 70,8	4 136,0+61,4				
50*					4 0,241+0,048	4 4805+1390	4 5766+1048	4 44,4+16,9	2 88,0+ 3,7				
(P)					<0,02	<0,10	<0,02	<0,10	<0,40				
Hemm%				34%	26%	38%	24%	65%	35%				
16. 3.67													
Kontr.					5 0,295+0,01	5 4754+ 596	5 6879+ 517	5 89,6+ 9,2	5 109,1+12,4				
80*					5 0,205+0,02	5 4011+1950	5 5277+1290	5 55,9+13,1	4 89,9+11,1				
(P)					<0,001	<0,10	<0,05	<0,001	<0,05				
Hemm%				51%	30%	15%	23%	<0,001	17%				
50*					2 0,199+0,01	2 5491+ 333	2 4877+ 917	2 88,7+32,5	1 136,0				
(P)					<0,001	<0,20	<0,02	<0,60	<0,40				
Hemm%				41%	32%	-13%	29%	1%	-19%				
26. 4.67													
Kontr.					7 0,305+0,046	7 4877+ 263	7 7173+ 307	7 121,0+ 37,3	7 98,1+20,1				
80*					7 0,238+0,029	7 3122+ 300	7 5161+ 645	7 37,6+ 9,4	7 73,7+ 8,3				
(P)					<0,01	<0,001	<0,001	<0,005	<0,02				
Hemm%				31%	22%	35%	69%	<0,005	25%				
50*					8 0,263+0,019	8 3010+ 374	8 5326+1064	8 38,3+14,3	8 66,0+19,8				
(P)					<0,05	<0,001	<0,001	<0,01	<0,01				
Hemm%				--	13%	38%	26%	69%	32%				
9. 6.67													
Kontr.					9 0,298+0,046	9 4404+ 496	9 7101+ 840	9 114,0+45,9	9 129,7+37,1				
80*					6 0,171+0,031	6 3633+ 497	6 4570+ 567	6 38,5+14,0	6 90,5+26,0				
(P)					<0,001	<0,10	<0,001	<0,005	<0,05				
Hemm%				70%	42%	17%	35%	66%	30%				

Mittelwert aus Wachstumshemmung und Enzymaktivitäten
der einzelnen Versuchsgruppen (Hemmprozente!)

Sanamycin

unterstrichen = signifikant

	% Wachstum hemmung	N	LDH	MDH	G6PD	6P	Dozt
ø	<u>33</u>	15	--	<u>50</u>	--	100	
ø	<u>44</u>	21	<u>27</u>	<u>77</u>	--	100	
57	11	15	22	<u>36</u>	32	90	
55	<u>29</u>	<u>33</u>	<u>31</u>	<u>37</u>	<u>31</u>	60	
56	<u>29</u>	<u>45</u>	<u>37</u>	<u>43</u>	<u>39</u>	90	
47	19	14	12	<u>56</u>	<u>45</u>	60	
34	<u>26</u>	38	<u>24</u>	65	35	50	
51	<u>30</u>	15	<u>23</u>	<u>37</u>	17	80	
31	<u>22</u>	35	<u>28</u>	69	25	80	
--	<u>13</u>	<u>38</u>	26	69	<u>32</u>	50	
70	<u>42</u>	17	<u>35</u>	<u>66</u>	<u>30</u>	80	
M	44,5	27,0	26,0	24,1	55,0	31,8	76
±	20	10	12	10	15	8	19

Actinomycin-D (Cosmegen)

Actinomyces (continued)							
	%	N	LD	MD	G6	6P	$\bar{x}$
	--	<u>33</u>	<u>22</u>	-3	<u>54</u>	--	90
	--	<u>26</u>	<u>33</u>	<u>32</u>	<u>71</u>	--	60
6	65	<u>12</u>	<u>43</u>	<u>47</u>	<u>76</u>	<u>74</u>	70
	73	<u>34</u>	<u>52</u>	<u>47</u>	<u>76</u>	<u>36</u>	60
	52	<u>45</u>	<u>41</u>	<u>39</u>	<u>74</u>	<u>47</u>	60
	48	<u>40</u>	<u>48</u>	<u>41</u>	69	31	40
	56	<u>37</u>	<u>28</u>	<u>37</u>	<u>61</u>	18	60
	33	<u>38</u>	<u>22</u>	<u>20</u>	<u>52</u>	<u>30</u>	40
	59	<u>13</u>	<u>43</u>	<u>29</u>	<u>70</u>	<u>30</u>	50
	32	<u>22</u>	<u>23</u>	<u>11</u>	<u>56</u>	<u>32</u>	30
	70	<u>41</u>	<u>24</u>	<u>18</u>	<u>70</u>	<u>37</u>	50
M	54,	33,	34,	428,	966,	337,	55
$\pm$	15	11	11	16	9	16	16

Leberenzymveränderungen bei Sanamycin-Behandlung.

Datum Dosis Signi- fikanz	Organismzahl mg N/ml	Organismzahl mU LDH/N	Organismzahl mU MDH/N	Organismzahl mU G6PD/N	Organismzahl mU 6PGD/N
24.6.66 Kontr.	4 1,69+0,16	4 2880+ 93	4 13633+2180	4 18,3+ 7,8	4 29,8+12,3
90% (P)	4 1,51+0,14 <0,20	4 3345+ 395 <0,10	4 14222+2240 <0,80	4 15,5+ 5,2 <0,60	4 20,9+ 5,3 <0,30
6.10.66 Kontr.	4 3,0 +0,2	4 4004+ 730	4 15525+ 718	4 33,7+ 5,0	4 28,2+11,7
90% (P)	4 3,2+ 0,2 <0,30	4 4952+ 336 <0,10	4 14527+1100 <0,20	4 28,0+ 4,0 <0,20	4 38,8+15,1 <0,40
17.11.66 Kontr.	3 3,0 +0,26	3 6717+ 965	3 13059+1060	3 39,8+ 3,1	3 35,5+ 3,7
60% (P)	3 3,5+ 0,30 <0,10	3 6539+ 491 <0,50	3 15333+1570 <0,10	3 27,5+ 8,8 <0,10	3 54,3+20,9 <0,20
12.1.67 Kontr.	3 3,16+0,54	3 5728+2370	3 15793+1960	3 38,9+ 7,7	3 45,1+ 6,7
50% (P)	4 3,18+0,21 <0,95	4 8035+1550 <0,20	4 18655+4980 <0,50	4 27,2+ 8,7 <0,20	4 40,9+ 6,9 <0,50

Leberenzymveränderungen bei Actinomycin-D-Behandlung.

24.6.66 Kontr.	4 1,69+0,16	4 2880+ 93	4 13633+2180	4 18,3+ 7,8	4 29,8+12,3
70% (P)	4 1,53+0,16 <0,30	4 3444+ 501 <0,10	4 16685+3480 <0,20	4 23,6+ 5,1 <0,40	4 33,7+10,7 <0,70
12.1.67 Kontr.	3 3,16+0,54	3 5728+2370	3 15793+1960	3 38,9+ 7,7	3 45,1+ 6,7
40% (P)	4 2,95+0,06 <0,50	4 5918+1650 <0,95	4 14677+ 360 <0,70	4 27,6+ 6,1 <0,10	4 42,2+14,0 <0,80
60% (P)	4 2,95+0,18 <0,20	4 5986+ 746 <0,90	4 18340+2330 <0,20	4 24,5+ 8,6 <0,10	4 53,5+11,7 <0,40

Tabelle 5

Tumorenzymveränderungen bei Endoxan-Behandlung.

Datum	Organen- zahl	mg N/ml	Organen- zahl	mU LDH/N	Organen- zahl	mU MDH/N	Organen- zahl	mU G6PD/N	Organen- zahl	mU 6PGD/N
25. 3.66										
Kontr.	6	0,261+0,044	6	5935+1530	6	8875+1530	6	56,9+22,5	6	110,1+24,9
70 mg	8	0,145+0,044	8	7327+1610	8	7765+1590	8	37,5+22,1	8	171,7+137,0
(P)		<0,001		<0,20		<0,30		<0,20		<0,50
Hemm%	54%	44%		-19%		12%		34%		34%
12. 8.66										
Kontr.	8	0,31 +0,03	8	5020+ 401	8	7904+ 732	8	98,0+28,4	7	92,9+13,7
30mg	5	0,21 +0,02	5	5146+1154	5	8456+ 258	5	74,5+20,8	5	91,3+16,6
(P)		<0,001		<0,80		<0,90		<0,20		<0,90
Hemm%	4%	32%		-2%		-6%		23%		1%
13.10.66										
Kontr.	6	0,318+0,069	6	4789+ 712	6	6574+ 855	6	54,0+11,9	5	107,4+14,2
30mg	8	0,287+0,012	8	4299+1010	6	7055+ 466	8	36,4+ 8,3	8	92,3+10,1
(P)		<0,30		<0,40		<0,30		<0,01		<0,10
Hemm%	19%	9%		10%		-7%		32%		14%
27. 2.67										
Kontr.	7	0,293+0,050	7	5400+ 667	7	8248+ 932	7	46,4+ 7,4	7	123,3+23,9
30 mg	6	0,233+0,037	6	4461+1160	6	6293+1480	6	66,5+13,4	6	125,0+10,7
(P)		<0,90		<0,60		<0,02		<0,01		<0,90
Hemm%	42%	20%		17%		23%		-31%		-1%
9.6.67										
Kontr.	9	0,298+0,046	9	4404+ 496	9	7101+ 840	9	114,0+45,9	9	129,7+37,1
40 mg	7	0,216+0,028	7	4175+1069	7	8893+2740	7	72,5+34,5	7	104,0+19,9
(P)		<0,005		<0,70		<0,10		<0,10		<0,20
Hemm%	69%	27%		5%		-20%		36%		19%

Leberenzymveränderungen bei Endoxan-Behandlung.

13.10.66										
Kontr.	4	2,81+ 0,12	4	2980+ 452	4	16723+ 542			4	23,6+ 7,1
30 mg	4	2,78+ 0,08	4	3790+ 963	4	18138+4350			4	22,5+ 3,1
(P)		<0,70		<0,40		<0,50				<0,80
27.2.67										
Kontr.	5	2,75+ 0,25	5	5190+1131	4	17356+2520	5	56,9+15,7	5	65,3+15,0
30 mg	4	2,82+ 0,46	4	5630+ 572	4	19150+6700	4	37,8+ 3,4	4	49,2+ 8,4
(P)		=0,80		<0,50		<0,70		<0,10		<0,10

Tabelle 6

Mittelwert aus Wachstums- und Enzymhemmung (Hemmprozente)
der einzelnen Versuchsgruppen; Unterstrichen=signifikant

Endoxan

Datum	Dosis	%	N	LDH	MDH	G6PD	6PGD
25.3.66	70	54	<u>44</u>	-19	12	34	34
12.8.66	30	4	<u>32</u>	-2	6	23	1
13.10.66	30	19	9	10	-7	<u>32</u>	14
27.2.67	30	42	20	17	<u>23</u>	<u>-31</u>	-1
9.6.67	40	69	<u>27</u>	5	-20	36	19
Mittel	40	37	26	2	0	19	13
+	20	30	18	12	19	32	16

Trenimon (Tumor)

25. 3.66	0,10	47	-7	9	12	<u>49</u>	9
12. 8.66	0,06	43	6	<u>22</u>	14	<u>41</u>	<u>34</u>
1. 9.66	0,08	37	21	9	17	38	33
29. 9.66	0,05	22	-4	<u>26</u>	13	<u>47</u>	0
29. 9.66	0,08	27	0	<u>24</u>	5	34	17
27. 2.67	0,05	20	5	2	<u>15</u>	-16	10
27. 2.67	0,08	37	15	<u>16</u>	7	6	<u>21</u>
9. 6.67	0,08	60	<u>20</u>	1	-13	<u>55</u>	<u>27</u>
Mittel	0,07	37	7	14	10	32	19
+	0,017	13	11	10	9	24	12

Trenimon (Leber)

12. 8.66	0,06	--	0	5	-38	<u>53</u>	--
29. 9.66	0,05	--	-6	3	-9	<u>49</u>	--
29. 9.66	0,08	--	-21	-2	10	<u>67</u>	--
27. 2.67	0,05	--	-5	0	-9	27	10
27. 2.67	0,08	--	-9	-18	6	<u>49</u>	32
Mittel	0,06		-8	<u>22</u>	-8	49	8
+	0,016		6,7	9,1	18,8	14,3	24,0

Tabelle 7

Tumorenzymveränderungen bei Trenimon-Behandlung

Datum	Basis	Signi- fikanz	Hemm%	Organanzahl	mg N/ml	Organanzahl	mU LDH/N	Organanzahl	mU MDH/N	Organanzahl	mU G6PD/N	Organanzahl	mU 6PGD/N
25.3.66	Kontr.			6	0,261+0,044	6	5935+1530	6	8875+1530	6	56,9+22,5	6	110,1+24,9
0,1 mg				6	0,281+0,150	6	5369+1450	6	7833+2840	6	28,9+ 8,5	6	100,1+45,0
(P)					<0,80		<0,70		<0,50		<0,02		<0,90
Hemm%	47%				-7%		9%		12%		49%		9%
12.8.66	Kontr.			8	0,31 +0,03	8	5020+ 401	8	7904+ 732	8	98,0+28,4	7	92,9+13,7
0,06mg				7	0,29+ 0,04	7	3909+ 485	7	6781+ 842	7	57,5+ 8,4	7	60,9+20,1
(P)					<0,40		<0,001		<0,40		<0,02		<0,005
Hemm%	43%				6%		22%		14%		41%		34%
1.9.66	Kontr.			5	0,33+0,04	5	3786+ 465	5	4827+ 480	5	45,9+ 9,5	5	80,6+21,4
0,08mg				5	0,26+0,11	5	3412+1290	5	4000+1370	5	28,4+17,8	5	53,3+18,7
(P)					<0,30		<0,60		<0,30		<0,10		<0,10
Hemm%	37%				21%		9%		17%		38%		33%
29.9.66	Kontr.			5	0,25+0,04	5	6117+1130	5	7545+1870	5	54,8+11,5	5	105,0+32,7
0,05mg				5	0,26+0,02	5	4499+ 376	5	6516+1090	5	28,9+ 2,1	5	104,9+10,7
(P)					<0,70		<0,02		<0,40		<0,001		0 %
Hemm%	22%				-4%		26%		13%		47%		0 %
0,08mg				6	0,25+0,01	6	4637+ 444	6	7123+ 409	6	36,2+11,5	6	87,0+29,0
(P)					1,00		<0,02		<0,70		<0,05		<0,40
Hemm%	27%				--%		24%		5%		34%		17%
27.2.67	Kontr.			7	0,293+0,050	7	5400+ 667	7	8248+ 932	7	46,4+ 7,4	7	123,3+23,9
0,05mg				5	0,278+0,066	5	5318+2520	5	6938+ 605	5	55,5+28,0	5	110,6+16,9
(P)					<0,70		<0,95		<0,025		<0,50		<0,40
Hemm%	20%				5%		2%		15%		-16%		10%
0,08mg				8	0,247+0,041	8	4508+ 850	8	7629+1390	8	43,5+12,2	8	97,0+ 8,6
(P)					<0,50		<0,05		<0,40		<0,60		<0,02
Hemm%	37%				15%		16%		7%		6%		21%
9.6.67	Kontr.			9	0,298+0,046	9	4404+ 496	9	7101+ 840	9	114,0+45,9	9	129,7+37,1
0,08mg				7	0,236+0,039	7	4346+ 717	7	8217+1510	7	50,6+ 4,4	7	93,5+17,8
(P)					<0,02		<0,90		<0,10		<0,005		<0,05
Hemm%	60%				20%		1%		-13%		55%		27%

Leberenzymveränderungen bei Trenimonbehandlung

12.8.66	Kontr.			4	1,47+0,06	4	3082+ 292	4	13350+3390	4	57,9+ 6,8
0,06mg				4	1,46+0,14	4	2924+ 653	4	21710+8670	4	27,0+14,6
(P)					<0,95		<0,70		<0,10		<0,005
29.9.66	Kontr.			4	2,63+0,53	4	4703+ 741	4	16379+1790	4	36,2+ 8,5
0,05mg				4	2,81+0,34	4	4599+ 908	4	17966+ 227	4	18,4+ 9,4
(P)					<0,60		<0,90		<0,40		<0,05
0,08mg				4	3,33+0,95	4	4821+ 527	4	14669+ 533	4	11,9+ 8,2
(P)					<0,80		<0,80		<0,20		<0,01
27.2.67	Kontr.			5	2,75+0,25	5	5190+1131	4	17356+2520	5	56,9+15,7
0,05mg				4	2,91+0,17	4	5218+ 326	4	19135+2690	4	41,1+ 8,8
(P)					<0,40		<0,97		<0,40		<0,20
0,08mg				5	3,02+0,36	5	6389+ 510	4	16278+2120	5	28,9+ 6,5
(P)					<0,30		<0,10		<0,60		<0,01

Tabelle 8

Tumorenzymveränderungen bei Fluorouracil-Behandlung.

Datum Dosis Signi- fikanz	Organanzahl mg N/ml	Organanzahl mU LDH/M	Organanzahl mU MDH/N	Organanzahl mU G6PD/N	Organanzahl mU 6PGD/N
23.11.65					
Kontr.	6 0,26+0,07	6 5562+1127	6 4685+ 985	6 46,4+26,2	
25mg	6 0,29+0,03	6 5040+ 866	6 4880+1118	6 46,6+21,8	
(P)	<0,40	<0,40	<0,80	<0,90	
7. 12.65					
Kontr.	6 0,51+0,08	6 4830+ 995	6 4313+ 341	6 30,2+17,6	
30mg	4 0,56+0,04	4 4380+ 584	4 3330+1140	4 44,7+18,8	
(P)	<0,40	<0,50	<0,10	<0,30	
13.10.66					
Kontr.	6 0,318+0,069	6 4789+ 712	6 6574+ 855	6 54,0+11,9	5 107,4+14,2
25mg	7 0,274+0,045	7 4377+ 884	7 6739+ 602	6 48,2+ 5,6	6 105,0+ 6,0
(P)	<0,20	<0,40	<0,70	<0,40	<0,70

Leberenzymveränderungen bei Fluorouracil-Behandlung.

13.10.66				
Kontr.	4 2,81+0,12	4 2980+ 452	4 16713+ 542	4 23,6+ 7,1
25 mg	3 3,01+0,23	3 3217+ 979	3 18145+1390	3 13,9+ 1,1
(P)	<0,70	<0,70	<0,20	<0,95

Tabelle 9

Tumorenzymveränderungen bei Cytosin-Arabinosid-Behandlung.

Datum	Organanzahl	Organanzahl	Organanzahl	Organanzahl	Organanzahl
Dosis	mg N/ml	mU LDH/N	mU MDH/N	mU G6PD/N	mU 6PGD/N
Signi- fikanz					
13.10.66					
Kontr.	6 0,318+0,069	6 4789+ 712	6 6574+ 855	6 54,6+11,9	5 107,4+14,2
25mg	6 0,333+0,031	6 4523+ 561	6 7222+ 577	6 52,7+ 6,1	6 105,0+12,4
(P)	<0,20	<0,50	<0,40	<0,90	<0,80

Leberenzymveränderungen bei Cytosin-Arabinosid-Behandlung.

13.10.66					
Kontr.	4 2,81+0,12	4 2980+ 452	4 16713+ 542		4 23,6+ 7,1
25mg	4 2,97+0,14	4 3873+1057	4 17843+1112		4 20,8+ 7,5
(P)	<0,20	<0,20	<0,20		<0,60

Leberenzymveränderungen bei SP-I -Behandlung.

24. 6.66	4 1,69+0,16	4 2880+ 93	4 13633+2180	4 18,3+ 7,8	4 29,8+12,3
300mg	4 1,55+0,18	4 3303+ 342	4 15754+ 936	4 30,6+22,0	4 32,8+10,3
(P)	<0,30	<0,10	<0,20	<0,30	<0,80
27.7.66					
Kontr.	4 1,52+0,14	4 3140+ 437	4 7896+ 516	4 37,3+ 9,6	4 35,9+ 4,9
150mg	4 1,26+0,27	4 3907+ 447	4 7741+2760	4 30,2+ 7,1	4 39,6+13,3
(P)	<0,20	<0,10	<0,95	<0,40	<0,70
29.9.66					
Kontr.	4 2,63+0,53	4 4703+ 741	4 16379+1790	4 36,2+ 8,5	
150mg	4 2,74+0,16	4 5018+ 774	4 15133+ 836	4 16,2+ 7,2	
(P)	<0,80	<0,60	<0,30	<0,02	
300mg	4 2,65+0,14	4 5113+ 788	4 15748+1570	4 23,4+ 7,2	
(P)	<0,95	<0,50	<0,60	<0,10	
24.10.66					
Kontr.	4 2,70+0,28	4 4179+ 298	4 15226+2030	4 48,5+12,0	4 37,3+ 5,5
200mg	3 2,86+0,31	3 4325+ 690	3 17109+1450	3 38,2+14,6	3 46,4+ 9,4
(P)	<0,50	<0,80	<0,30	<0,40	<0,20
27.2.67					
Kontr.	5 2,75+0,25	5 5190+1131	4 17356+2520	5 56,9+15,7	5 65,3+15,0
150mg	4 2,48+0,09	4 5980+ 901	4 17274+2160	4 68,6+29,9	4 56,5+19,0
(P)	<0,10	<0,30	<0,97	<0,50	<0,50

Tabelle 10

Tumorenzymveränderungen bei SP-I Behandlung.

Datum	Dosis	Signi- fikanz	Hemm%	wichtige - Hemmung Tumorenzym	mg N/ml	Tumorenzymzahl	mU LDH/N	Tumorenzymzahl	mU MDH/N	Tumorenzymzahl	mU G6PD/N	Tumorenzymzahl	mU 6PGD/N
21.4.66	Kontr.				7 0,14+0,04	7 6015+3640	7 6036+4340	7 30,5+12,4	7 40,3+22,4				
200mg					6 0,19+0,03	6 1371+ 369	6 1106+ 442	6 16,3+ 9,6	6 40,0+20,0				
(P)					<0,10	<0,02	<0,02	<0,05	<0,80				
Hemm%					-26%	77%	81%	46%	0%				
4. 6.66	Kontr.				3 0,64+0,04	4 3530+ 423	4 4774+ 418	4 87,8+46,5	4 80,7+23,8				
250mg					9 0,68+0,08	11 3512+ 538	11 4940+ 571	11 57,8+22,7	9 62,3+12,6				
(P)					<0,50	<0,97	<0,70	<0,20	<0,10				
Hemm%					-6%	0%	-3%	34%	22%				
150mg					5 0,71+0,02	7 3121+ 104	7 4938+ 316	7 52,9+17,7	7 59,8+ 9,2				
(P)					<0,02	<0,60	<0,50	<0,20	<0,10				
Hemm%					-9%	11%	-3%	39%	25%				
24.6.66	Kontr.				6 0,24+0,07	6 4284+ 515	6 6159+ 514	6 46,9+ 12,1	6 67,6+25,7				
300mg					9 0,23+0,05	9 4190+ 908	9 5884+1310	9 24,4+ 10,4	9 62,1+22,9				
(P)					<0,10	<0,95	<0,70	<0,005	<0,70				
Hemm%	27%				4%	2%	5%	48%	8%				
27.7.66	Kontr.				6 0,29+0,05	6 4547+ 492	6 5049+ 976	6 72,5+15,5	6 137,0+27,2				
150mg2.					8 0,26+0,07	8 3895+ 956	8 3974+1370	8 55,4+25,5	8 121,0+43,8				
(P)					<0,40	<0,20	<0,20	<0,20	<0,50				
Hemm%	38%				10%	14%	21%	23%	11%				
1. 9.66	Kontr.				5 0,33+ 0,04	5 3786+ 465	5 4827+ 480	5 45,9+ 9,5	5 80,6+21,4				
150mg					6 0,26+ 0,03	6 3518+ 296	6 3124+ 871	6 33,4+11,8	6 70,3+12,4				
(P)					<0,70	<0,30	<0,005	<0,10	<0,40				
Hemm%	56%				21%	6%	35%	27%	12%				
29.9.66	Kontr.				5 0,25+ 0,04	5 6117+1130	5 7545+1870	5 54,8+11,5	5 105,0+32,7				
300mg					6 0,27+ 0,01	6 6381+ 907	6 8194+1090	6 55,2+ 4,8	6 98,9+10,0				
(P)					<0,30	<0,70	<0,50	<0,95	<0,70				
Hemm%	43%				-7%	-4%	-7%	0%	5%				
150mg					6 0,27+0,05	6 5543+ 727	6 7207+ 442	6 52,6+ 4,8	6 92,1+33,0				
(P)					<0,60	<0,30	<0,70	<0,70	<0,60				
Hemm%	7%				-7%	9%	4%	4%	12%				
24.10.66	Kontr.				5 0,33+ 0,03	5 5038+ 364	6 7007+ 629	5 51,7+ 2,8	5 75,2+ 7,4				
200mg					7 0,24+ 0,05	7 4634+ 517	7 7284+1038	7 50,5+15,4	7 85,2+16,9				
(P)					<0,01	<0,20	<0,60	<0,90	<0,30				
Hemm%	0%				27%	8%	-3%	2%	-11%				
27.2.67	Kontr.				7 0,293+0,050	7 5400+ 667	7 8248+ 932	7 46,4+ 7,4	7 123,3+23,9				
150mg					5 0,295+0,072	5 5886+ 882	5 8318+ 755	5 58,0+49,8	4 113,0+17,8				
(P)					<0,97	<0,40	<0,90	<0,60	<0,50				
Hemm%	44%				--	-8%	-1%	-20%	8%				

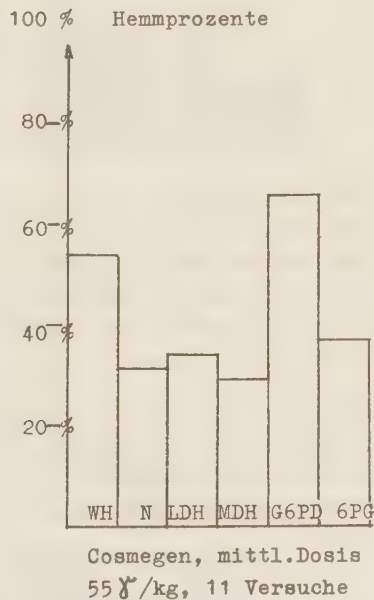
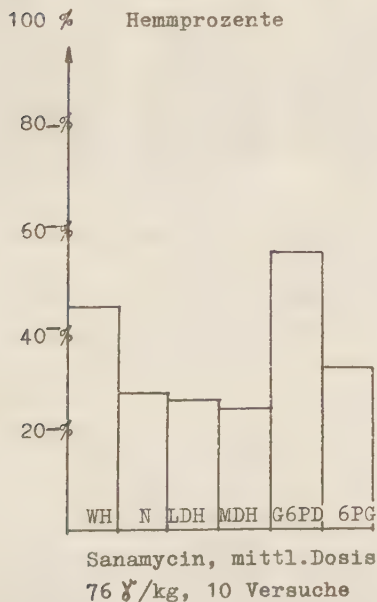
II. Auswertung der Tabellen

Da wegen des großen Arbeitsaufwandes bei der Verarbeitung der exstirpierten Tumoren und Lebern nur verhältnismäßig kleine Versuchsgruppen von durchschnittlich 6 - 8 Tumoren verwendet wurden und da die Versuchstiere und die Transplantationstumoren individuelle Schwankungen zeigten, konnte nur eine überwiegend konstante Reproduzierbarkeit der einzelnen Versuche erreicht werden. Von den erprobten Zytostatika zeigten die zur Antibiotikagruppe zählenden Präparate Cosmegen und Sanamycin die stärkste Beeinflussung der untersuchten Enzyme (Tabelle 1, 2, 3, Figur 1).

Figur 1:

Beeinflussung der Tumoren durch Behandlung mit Sanamycin bzw. Cosmegen.

Figur 2:



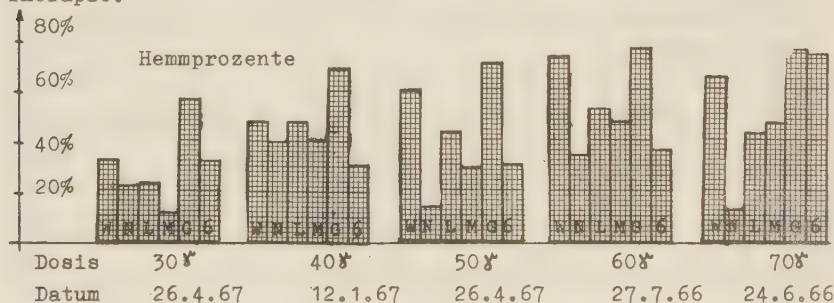
Zu Figur 1:

Hemmprozente des Tumorwachstums (WH), des Organstickstoffs (N), der Enzyme Lactatdehydrogenase (LDH), Malatdehydrogenase (MDH), Glucose-6-Phosphatdehydrogenase (G6PD) und der 6-Phosphogluconatdehydrogenase (6PG), bei einer mittleren Sanamycindosis von 76 γ pro kg pro die, 7 Tage lang, bzw. Cosmegendosis von 55 γ pro kg pro die, 7 Tage lang.

In Übereinstimmung mit den früheren Versuchen von Goldenberg und Witte (26) wird vor allem die G6PD von beiden Substanzen gehemmt. Sanamycin hemmt bei einer mittleren Dosis von 75 γ /kg die G6PD um etwa 55%, die übrigen Enzyme und den N-Gehalt um 27%. Am häufigsten ist die G6PD signifikant gehemmt (in 11 Versuchsgruppen 10 mal), am wenigsten die LDH (in 11 Versuchsgruppen 4 mal). Die Tumorwachstumshemmung beträgt dabei durchschnittlich 45%.

Figur 3:

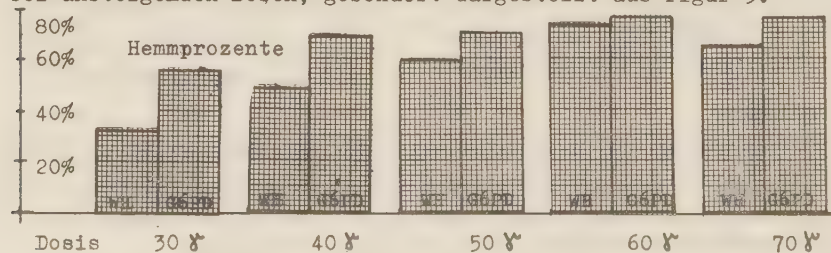
Beeinflussung der Tumoren bei ansteigender Cosmegen-Therapie.



Erklärung: Dosis jeweils in γ pro kg pro die, 7 Tage lang;
Wachstumshemmung (W), Organstickstoff (N),
Lactatdehydrogenase (L), Malatdehydrogenase (M),
Glucose-6-Phosphatdehydrogenase (G), 6-Phosphogluconat-
dehydrogenase (6).

Figur 4:

Beeinflussung des Tumorwachstums im Vergleich zur Glucose-6-Phosphatdehydrogenase-Beeinflussung durch Actinomycin-D bei ansteigenden Dosen, gesondert dargestellt aus Figur 3.



Cosmegen (Actinomycin D) hemmt bei einer Dosis von 55 μ /kg die G6PD um 65 %, die Hemmung der übrigen Enzyme und des N-Gehaltes beträgt 30 - 35 %. Es fällt auf, daß die Signifikanz der LDH-Hemmung konstanter ist. Die Tumorwachstumshemmung beträgt hier 55 %.

In gleicher Weise, wie bei Goldenberg (26) für Sanamycin eine Beziehung zwischen therapeutischer Dosis und Hemmung von Wachstum und G6PD gezeigt wurde, läßt sich auch für Cosmegen eine Korrelation zwischen Dosis und Enzymhemmung finden (Figur 4). Auch hier zeigt die G6PD die größte Übereinstimmung mit der Wachstumshemmung. Im Leberhomogenisat waren sowohl die Stickstoffwerte als auch die Enzymwerte unter der Therapie mit Sanamycin und Cosmegen nicht signifikant gehemmt (Tabelle 4).

Von den alkylierenden Substanzen wurden Endoxan und Trenimon untersucht. Dabei zeigte sich bei einer mittleren Endoxandosis von 40 mg/kg in 5 Versuchsgruppen keine reproduzierbar signifikante Enzymhemmung, weder im Tumorgewebe noch im Lebergewebe. Jedoch erfolgte eine signifikante N-Hemmung im Tumorgewebe bei 3 von 5 Versuchen (Tabelle 5; 6).

Mit einer mittleren Dosis von 0,07 mg/kg Trenimon wurde eine Tumorwachstumshemmung von 35% erreicht; die Hemmung der G6PD betrug dabei 30 %; die der 6PGD 20%; die der LDH, MDH und des N 10%. Hierbei waren die Hemmungen nur selten signifikant. (Tabelle 6; 7).

Von den Leberenzymen wurde nur die G6PD bei einer mittleren Trenimondosis von 0,06 mg um 50% gehemmt, bei 5 Versuchsgruppen 4 mal signifikant. Die übrigen Enzyme und der N-Gehalt blieben unverändert (Tabelle 6; 7).

Aus der Gruppe der Antimetaboliten wurden Fluorouracil in 3 Versuchsgruppen und Cytosin-Arabinosid in einer Versuchsgruppe geprüft. Fluorouracil zeigte bei einer Dosis von 25 mg/kg trotz einer Wachstumshemmung von 25 % keinerlei Veränderungen an N- und Enzymgehalt im Tumor- und Lebergewebe (Tabelle 8).

Die Wirkung von Cytosin-Arabinosid 25 mg/kg kann auf Grund des einen Versuches bei nur einmaliger Zytostatika-Applikation pro die nicht beurteilt werden und bedarf weiterer Untersuchungen (Tabelle 9).

Das als Antimitotikum bezeichnete SP-I (Proresid) hatte bei einer Dosis von etwa 200 mg eine Wachstums-
hemmung von 30%. Die Enzymhemmung war mit 5 - 10%
durchweg nicht signifikant (Tabelle 10). In
den Leberenzymen zeigte sich unter der SP-I Therapie
keine Hemmung (Tabelle 9).

D. D i s k u s s i o n

Die in vorliegender Arbeit untersuchten heterotrans-
plantablen menschlichen Tumoren stellen chemothera-
peutisch schwer beeinflussbare maligne Tumoren dar und
sind somit ein scharfes Prüfungsmodell für die unter-
suchten Substanzen. Otto Warburg nimmt als primäres
Kriterium der Malignität das Überhandnehmen der
fermentativen, anaeroben Atmung gegenüber der aeroben
Atmung an (91). Er zeigt, daß die Krebszelle nahezu den
gleichen Betrag an Energie aus der anaeroben Gärung be-
zieht wie aus der aeroben Atmung, während die normale
Leberzelle nur 1/100 der Energie aus der Gärung be-
zieht. Wenn auch viele Autoren das Überwiegen der anaero-
ben Atmung in der Tumorzelle als primäre Malignitätsur-
sache ablehnen und als Folge des schnellen Wachstums
erklären, so bleibt die Tatsache an sich doch ein
biochemisches Hauptmerkmal der malignen Entartung.
Durch die Untersuchung von Enzymen als Indikatoren
für bestimmte Energiestoffwechselwege kann man
sich einen guten Einblick in das biochemische Verhalten
der Tumorzelle erhoffen.

DI Zu den einzelnen untersuchten Enzymen:

Lactatdehydrogenase (LDH).

Dieses Enzym katalysiert die Umwandlung von Brenztrauben-
säure in Milchsäure, das letzte Glied in der anaeroben
Glycolyse. Bei Tumoren wird das Enzym häufig erhöht
gefunden (3, 7, 53, 62, 80), auch finden sich Veränderungen
der LDH-Isoenzyme (32, 67, 89, 97). Die spezifische
Aktivität dieses Enzyms im Serum, in der Punktatflüssig-
keit, im Urin wird zur Tumordiagnostik und zur Verlaufs-
beobachtung herangezogen (20, 21, 62). Jedoch ist die
LDH-Erhöhung nicht tumorspezifisch; eine Abgrenzung von
der Gruppe der Entzündungen ist nicht möglich (62).
In den dargestellten Untersuchungen hielt sich die

LDH-Hemmung im Rahmen der Proteinhemmung und zeigte keine Besonderheiten. Auf die mögliche Ursache der höheren Hemmung während der Actinomycin-D-Therapie wird später eingegangen.

Malatdehydrogenase (MDH)

Dieses Enzym fördert die Umwandlung von Malat in Oxalacetat und ist als Bestandteil des Krebszyklus Indikator für die Leistungsfähigkeit der aeroben Atmung. Im Tumorgewebe ist keine Erhöhung dieses Enzyms zu erwarten. Dies zeist zum Beispiel T.O. Kleine(53), der die MDH als Bezugsenzym für andere Enzymaktivitäten verwendet. K.D. Paeschke (69) hält die unterschiedliche Aktivität des Enzyms als charakteristisch für individuelle Korpuskarzinome. Bei der zytostatischen Behandlung wurde die Malatdehydrogenase entsprechend der Lactatdehydrogenase etwa im gleichen Ausmaß wie der Eiweißgehalt des Tumorgewebes gehemmt. Die LDH-, MDH- und Eiweißhemmung waren bei Actinomycin-C- und Actinomycin-D- Behandlung durchweg, bei allen anderen Therapien höchstens sporadisch signifikant. Bei der Trenimonbehandlung war die MDH das am wenigsten zurückgedrängte Enzym. Leider konnte die mitochondriale MDH aus dem Zentrifugatrückstand der Tumorphomogenisate nicht bestimmt werden. Hypothetisch wäre ein Abfall der mitochondrialen MDH nach SP-I-Behandlung zu erwarten. N. Sipus (86)*gibt einen Mitochondrienzerfall nach dieser Therapie an.

Glucose-6-phosphatdehydrogenase (G6PD)*

Die G6PD katalysiert die Umwandlung von Glucose-6-phosphat in 6-Phosphogluconat mit hoher Substratspezifität (34). Sie ist das erste Enzym des Pentosephosphatzyklus. Besonders beachtet wird die G6PD wegen ihrer Rolle bei hämolytischen Krankheiten; als Hauptvertreter sei der Favismus genannt. G6PD-Isoenzyme dienen zum Nachweis der Leiomyomentstehung aus einer Zelle (56), der multizellulären Entstehung der hereditären multiplen Trichoepitheliome (19). Die G6PD nimmt beim Tumorwachstum ähnlich wie bei dem nach Nekrose einsetzenden Regenerationswachstum oder bei dem durch Hormone stimulierten Wachstum eine Sonderstellung ein. So steigt beim Herzmuskel im Infarktgebiet die G6PD auf das 34-fache an (38). Nach Cortikoidbehandlung erhöht

sich die Leber-G6PD um das 3,6-fache (47). Im Tumorgewebe finden sich erhöhte Aktivitäten der G6PD (60, 64, 95). Dem schnell wachsenden Tumorgewebe liefert die G6PD im Rahmen des Pentosephosphatzyklus (1.) red. TPN für die DNS-Synthese, Aminosäurensynthese, (2.) Ribose für die Neubildung der Nucleoproteine (48). Dieser engen Verknüpfung der G6PD-Aktivität mit dem anabolen und dem Kernstoffwechsel der Tumorzelle ist wahrscheinlich die hohe Empfindlichkeit dieses Enzyms gegenüber den verschiedenen getesteten Zytostatika zuzuschreiben. Während LDH und MDH im gleichen Maße wie der Eiweißgehalt zurückgedrängt wurden, wurde die G6PD von Sanamycin und Cosmegen und, wenn auch nicht signifikant, von den übrigen Zytostatika im zweifachen Ausmaß der Eiweißhemmung zurückgedrängt. Die G6PD-Hemmung entspricht damit als einzige bei den untersuchten Enzymen der gefundenen Wachstums-hemmung. Andere Autoren berichten über Enzyme, die im Vergleich zur G6PD oder zum Stickstoff bei Zytostatika-Applikation gleichstark oder empfindlicher reagieren, zum Beispiel Phosphoglyceroaldehyddehydrogenase (58) und Glutamatdehydrogenase (47). Die G6PD im Leberhomogenisat wird bei den untersuchten Substanzen nur durch Trenimon gehemmt.

6-Phosphogluconatdehydrogenase (6PGD).

Die 6PGD katalysiert den zweiten Schritt des Pentosephosphatzyklus, nämlich die Umwandlung von 6-Phosphogluconat zu Ribose-5-phosphat. Das Enzym ist im Tumorgewebe vermehrt (3, 64). In den letzten Jahren fand es besondere Beachtung wegen seiner eventuellen Verwertbarkeit zur Cervix-Carcinomdiagnose (1, 5, 63). Die Vermehrung des Enzyms im Tumorgewebe, im regenerierenden Herzgewebe (38) ist nicht so stark wie die der G6PD; in Adenocarcinomen ist ihre Aktivität sehr unterschiedlich (64). Entsprechend der geringen Vermehrung im Tumorgewebe trat nach Zytostatikatherapie auch eine weniger deutliche Enzymhemmung auf. Immerhin liegt die

6 PGD-Hemmung bei allen untersuchten Zytostatika anscheinend gering über der Stickstoffhemmung und der hiermit korrelierenden LDH- und MDH-Hemmung.

DII. Über die Wirkung der einzelnen untersuchten Zytostatika.

Actinomycin-C (Sanamycin) und Actinomycin-D (Cosmegen).

Der Name Actinomycin stammt von Waksman und Woodruff (90). Sie benannten so ein kristallisiertes, stark giftiges Antibiotikum, das sie 1940 aus der Kulturlösung von *Actinomyces antibioticus* isolierten. 1952 zeigte Hackmann (39) die zytostatische Wirkung von Actinomycin-C. Die Konstitution der einzelnen Actinomycine wurde im wesentlichen von Brockmann (10) aufgeklärt; Actinomycin-C ist ein Gemisch verschiedener Actinomycine (C_1 , C_2 und C_3). Actinomycin-D (Dactomycin, Cosmegen) ist eine Reinsubstanz (C_1) (27).

Der Wirkungsmechanismus der Actinomycine wird folgendermaßen gedeutet: Beim Zellwachstum werden die Protein-Synthese und die RNA-Synthese gehemmt. Die Hemmung wird damit erklärt, daß Actinomycin mit DNA einen Komplex bildet und dieser Komplex nicht mehr als Matrix für die Orientierung der RNA dienen kann (82, 4, 18, 23, 24, 40, 43, 50, 94). Bei folgenden Enzymen wird eine Enzymhemmung durch Actinomycin beschrieben: bei L-Arabinoseisomerase (13); LDH, MDH (79); α -Glucoronidase (76); Thymidin-kinase (52); Glutamatdehydrogenase (47). Eine vom Zeitpunkt der Actinomycintherapie abhängige Enzyminduktionshemmung zeigen mehrere Autoren (72-74, 54). Die Beeinflussung der Mitose wird durch J.B.Melvin untersucht (61). Hsien-Gieh Sie und W.H. Fishman konnten nach Stimulation der Enzyme des Pentosephosphatzyklus durch Äthionin keine Enzymhemmung durch Actinomycin erreichen (85). Bei den im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit durchgeführten Versuchen bewirkte sowohl Sanamycin als auch Actinomycin-D eine starke Hemmung der Enzyme und des Eiweißgehalts. Die bevorzugte Hemmung der G6PD dürfte wahrscheinlich, wie schon gesagt, auf der innigen Beziehung dieses Enzyms sowohl mit dem anabolen wie auch dem Kernstoffwechsel der Zelle beruhen. Ein grundlegender Unter-

schied zwischen der Sanamycin- und der Cosmegenwirkung besteht nicht. Die Tatsache, daß die Signifikanz der LDH-Hemmung bei der Cosmegen-Therapie (55 μ /kg) konstanter ist als bei der Sanamycin-Therapie (76 μ /kg), dürfte auf der allgemein stärkeren Wirkung des reinen Actinomycin-D-Präparates beruhen.

Eine interessante Analogie zum Tumorwachstum findet sich bei den hormonell ausgelösten Zellstoffwechseländerungen. So zeigen Autoren eine durch ACTH-, bzw. Corticoidbehandlung ausgelöste Vermehrung des Organproteingehalts, besonders der spezifischen Enzymproteine; Anstieg des Lebernitrogengehalts um 150 %, der G6PD um 260 % (93), 2-3-fachen Anstieg der G6PD und der TPN-MDH (44), Anstieg von LDH, MDH, Leber-N, RNA um das Dreifache, Senkung des Orotsäureeinbaus in die RNA um 1/3 (92), Induktion des LDH-M-Isoenzyms (33), leichte Steigerung der G6PD (74). Von den Autoren zeigen einige (93, 33) eine Hemmung dieses Hormoneffekts durch Actinomycin. Diese Ergebnisse stehen in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Versuche, die als Grundlage für die vorliegende Arbeit durchgeführt wurden. Besonders die bevorzugte Stellung der G6PD gegenüber dem allgemeinen Proteingehalt ist sowohl beim Tumorwachstum als auch beim hormonell induzierten Wachstum vorhanden.

Endoxan und Trenimon.

Zu den alkylierenden Substanzen zählen Cyclophosphamid (Endoxan) und Triäthyleniminobenzochinon (Trenimon). Das N-Lostderivat Cyclophosphamid entfaltet seine Aktivität erst nach oxydativer Aktivierung des Moleküls an den Lebermikrosomen (8). Da die Aktivierung vornehmlich in der Leber erfolgt, entfällt der Vorteil des Transportform-Wirkform-Prinzips. In Stickstoffatmosphäre unterbleibt die Aktivierung vollkommen (8). Da der Tumorstoffwechsel relativ sauerstoffarm ist, müßte eine verminderte Aktivierung im Tumor angenommen werden. Aufgrund spezieller Zellmembraneigenschaften soll eine Spezifität der Tumorzellen für den stark hydrophilen aktivierten Metaboliten

des Endoxans bestehen (9).

Trenimon ist ein polyfunktionelles Molekül mit mehreren Äthyleniminringen. Als trifunktionelles Molekül verbindet es die alkylierende Wirkung der Äthyleniminringe mit zytostatischen Effekten der Chinonkonfiguration (84). Die Alkylradikale können mit vielen organischen Molekülen reagieren. Infolgedessen rufen alkylierende Zytostatika vielfältige biochemische Wirkungen hervor: Alkylierung des N-7-Atoms im Guanidinmolekül, Vernetzung der DNS-Stränge, Hemmung der DNS-Synthese, der Proteinsynthese, der Glycolyse (84). Über das Verhalten der Enzyme unter Endoxan-Therapie berichten viele Autoren: über Esterase, Succinodehydrogenase, alkal. Phosphatase (12); Hemmung der G6PD (17, 35, 36); MDH-Hemmung (37); Dihydrofol-Reduktase (49); LDH-Senkung (51); Leukozytenphosphatase (65); Leuko-Peroxydase (66); SGOT, SGPT, LAP (70); Desoxyribonuklease (81). Endoxan wurde bei vorliegender Arbeit in 5 Versuchsgruppen untersucht; dabei differierten die erhaltenen Enzymhemmungen in den einzelnen Versuchsgruppen sehr stark. Die Befunde von Grella (35/36) über eine Hemmung der G6PD und der MDH (37) konnten nicht bestätigt werden. Immerhin zeigte die deutliche Stickstoffhemmung den multiplen Angriff des Endoxans auf den Proteinstoffwechsel der Zelle an.

Die biochemische Auswirkung des Trenimons untersuchten mehrere Autoren: Reduktion SH-haltiger Enzyme (22); Proteinsynthesehemmung (46); Aerobe Glycolyse (55); LDH (68); aerobe Atmung (77); NAD-Senkung (78); Desoxyribonukleaseerhöhung (81). Die etwas über der Stickstoffhemmung liegende Enzymhemmung spricht für den multiloculären Angriff der Alkylantien, die sowohl die Enzymneusynthese als auch bereits gebildete Enzyme hemmen. Über die Sonderstellung der G6PD wurde bereits auf Seite 21 berichtet. Mehrere Autoren geben als hauptsächlichen Hemmungsmechanismus des Trenimons die Verminderung des DPN-Gehalts an (15, 45, 59):

Trenimon → DPNverminderung → Glycolysehemmung → ATPverminderung

Sinkt aber der ATP-Gehalt der Zelle, dann entfällt eine Hemmung der G6PD (2). Als Folge müßte der Zellgehalt des Enzyms durch vermehrte Neubildung ansteigen. E. Liss (57) konnte zeigen, daß zur Senkung des NAD-Gehaltes stets eine höhere Konzentration an alkylrierender Substanz angewendet werden muß als zur Senkung der Nukleinsäuresynthese. Bei einer Störung der Nukleinsäuresynthese wird die Verwertung der Ribose aus dem Pentosephosphatzzyklus gehemmt; die Senkung der G6PD und 6PGD erfolgt also vor der durch Trenimon bedingten DNA-Senkung.

Von den Antimetaboliten wurde, allerdings nur in wenigen Versuchsgruppen, Fluorouracil geprüft. Fluorouracil wurde nach der Beobachtung von Rutmann 1954 entwickelt (83), daß ein chemisch induziertes Rattenhepatom Uracil in viel größerem Ausmaß als Baustein für die Nucleinsäuresynthese benutzt als normale Leber, welche die Orotsäure als Hauptvorstufe verwendet, "kataboles Deletionsphänomen" (42).

5-Fluorouracil wird in die m-RNA auf den Platz des Cytosins eingebaut (11). Dieses 5-Fluorouracil wird beim Ablesen von der m-RNA so abgelesen, als stünde Uracil am Platz des Cytosins. Dadurch ergeben sich Ableseschwierigkeiten und Verwechslungen einzelner Aminosäuren beim Einbau in Proteine, bzw. Enzyme. Zum Beispiel werden verwechselt Valin/Alanin, Threonin/Alanin, Serin/Glycin. Die sofortige Hemmung der β -Galactosidase nach Fluorouracilzufuhr beruht auf der Produktion eines enzymatisch inkompetenten, aber serologisch gleich wirkenden Proteins; Ähnlich zeigt die alk. Phosphatase nach Fluorouracil geänderte chemisch-physikalische Eigenschaften. Neben einer möglichen Bildung falscher m-RNA hemmt Fluorouracil die Thymidylatsynthetase und bewirkt dadurch eine starke Hemmung der DNA-Synthese (42), die schließlich zu einer verminderten Mitoserate führt.

Bei den in Zusammenhang mit vorliegender Arbeit durchgeführten Versuchen zeigte Fluorouracil bei einer Dosis von 25 mg eine Wachstumshemmung von 25%, aber keine Hemmung im Stickstoff und Enzymgehalt von Tumor- und Lebergewebe. Dafür bieten sich folgende Erklärungen an:

(1.) Fluorouracil wirkt verhältnismäßig toxisch; nach 7 Tagen kamen nur die Tiere zur Enzymuntersuchung, die Überlebt und sich an das Fluorouracil adaptiert hatten. Siehe auch Resistenzentwicklung gegen Fluoropyrimidine (6).

(2.) Fluorouracil wirkt über die Bildung einer fehlerhaften m-RNA. Es kommt zur Bildung inaktiver Proteine (unveränderter Stickstoffgehalt!), die das Zellwachstum verlangsamen (Wachstumshemmung!). Anscheinend haben die falschen m-RNA wenig Einfluß auf die untersuchten Enzyme.

SP-I (Proresid), ein Podophyllinderivat, gehört in die Gruppe der Antimitotika ähnlich wie Colchicin und Alkaloide aus *Vinca rosea*. 1947 zeigte B.J.Sullivan (88), daß die durch Podophyllin erzielte Hemmung auf einer Arretierung der Mitose in der Metaphase beruht. Es kommt zu einer Zellschädigung schon in der Interphase (86, 75, 41). Dabei findet sich eine vakuolige Umwandlung der Zellen mit Mitochondrienzerfall. Nach letzteren Ergebnissen müßte man eine Veränderung der Enzyme erwarten. So berichtet auch K.D. Paeschke (69) über eine LDH- und MDH-Erniedrigung im Serum unter kombinierter Strahlen- und SP-I-Therapie. Bei den in Zusammenhang mit vorliegender Arbeit durchgeführten Versuchen fand sich im Tumorphomogenisat wohl eine geringe unsignifikante Enzymhemmung; sie stand aber in keinem Verhältnis zur Wachstumshemmung. Der wachstumshemmende Effekt des SP-I dürfte danach hauptsächlich auf seiner Mitosehemmung beruhen.

DIII Schluß

Die in der vorliegenden Arbeit geschilderten Untersuchungen zeigen, daß in dem verwendeten Tumorsystem unter den geprüften Tumorenzymen diejenigen des Pentosephosphatzyklus (G6PD und 6PGD) besonders durch Substanzen mit starker Antitumorwirkung beeinflussbar waren. Ob dieser Effekt nur bei den bis jetzt geprüften menschlichen Dickdarmtumoren, die im heterologen Wirt gezüchtet werden, oder auch allgemein Gültigkeit

besitzt, muß durch Untersuchungen an anderen Tumorsystemen geklärt werden. Bei günstigem Ausfall solcher Untersuchungen könnte diese Methode dann als Prüfmodell für eventuell wirksame zytostatische Mittel angewendet werden.

E. Z u s a m m e n f a s s u n g

Ein heterolog in die Hamsterbackentasche transplantiertes menschliches Colonicarcinom GW-39 diente zur Prüfung folgender Zytostatika: Actinomycin-C (Sanamycin®), Actinomycin-D (Cosmegen®), Trenimon®, Endoxan®, SP-I®, Fluorouracil®, In 20 Versuchsgruppen mit jeweils etwa 30 getesteten Organproben wurde das Verhalten des Organstickstoffs, der Enzyme LDH (Lactatdehydrogenase), MDH (Malatdehydrogenase), G6PD (Glucose-6-phosphatdehydrogenase) und 6PGD (6-Phosphogluconatdehydrogenase) untersucht. Hierbei wurden die Homogenisate der Tumoren und der Lebern von den zytostatisch behandelten Hamstern mit den Homogenisaten der Tumoren und Lebern von den nicht zytostatisch behandelten Kontrolltieren verglichen.

Von den erwähnten Enzymen nimmt die G6PD beim Tumorstoffwechsel ähnlich wie beim hormonell stimulierten Wachstum oder bei dem nach Nekrose einsetzenden Regenerationswachstum eine Sonderstellung ein. Sie reagiert am empfindlichsten auf wirksame Zytostatika mit einer doppelt so hohen Aktivitätsabnahme, verglichen mit der allgemeinen Proteinhemmung (Organstickstoff). Die übrigen Enzyme (LDH; MDH; 6PGD) zeigen eine der Stickstoffhemmung entsprechende Aktivitätsverminderung. Dabei liegt die Hemmung der 6PGD anscheinend gering über der Stickstoffhemmung.

Von den Zytostatika bewirken Actinomycin-C (Sanamycin) und Actinomycin-D (Cosmegen) eine signifikante Hemmung der Tumorenzyme und des Tumorstickstoffes. Die Hemmung der G6PD ist ausgeprägter und, wie oben erwähnt, doppelt so stark wie die Hemmung des Organstickstoffes und der übrigen Enzyme. Die G6PD-Hemmung steigt mit zunehmender Actinomycin-D-Dosis an. Der stärkere

Effekt von Actinomycin-D gegenüber Actinomycin-C bei gleicher Dosis dürfte auf der Reinheit des Actinomycin-D-Präparates beruhen. Auf die Leber haben beide Zytostatika unter den Versuchsbedingungen keine Auswirkung.

Die übrigen untersuchten Zytostatika (Trenimon, Endoxan, SP-I und Fluorouracil) zeigen ein ähnliches Hemmungsmuster, die Hemmungen sind aber meist nicht signifikant. Die Leber wird nur von Trenimon beeinflusst, das in 4 von 5 Versuchsgruppen eine signifikante G6PD-Hemmung verursacht.

Die Bedeutung der einzelnen Enzyme im Tumorstoffwechsel und der Wirkungsmechanismus der geprüften Zytostatika wurden anhand der obigen Befunde diskutiert.

F. L i t e r a t u r

- (1) Abraham, R. und Vorherr, H.:
Ursache der 6PGD-Aktivität im Vaginalsekret bei Kollumkarzinom. Dtsch.Med.Wschr. 91; 345-348 (1966).
- (2) Avigad, G.:
Inhibition of glucose-6-phosphatedehydrogenase by adenosine 5-triphosphate. Proc.Nat.Acad.Sci. USA 56: 1543-7 (1966).
- (3) Ayre, H.A., et al.:
Enzymes of the human cervix uteri. Comparision of dehydrogenases of lactate, isocitrate, and phosphogluconate in malignant and non-malignant tissue samples. Brit.J.Cancer 20:743-50 (1966).
- (4) Becker, FF. et al.:
In vivo complex formation of actinomycin D and desoxyribonucleic acid. Nature (London) 211:84-5 (1966).
- (5) Bell, J.L.:
6PGDH estimation in vaginal fluid in the diagnosis of cervical Ca. London, J.Obstet, Gynaec.Brit. Cwlth. 72:603-9 (1965).

- (6) Block, A. und Hutchinson, D.J.:
A mechanism of resistance to Fluoropyrimidines.
Cancer Res. 24:433 (1964).
- (7) Boxer, G.E.:
Glycolytic enzymes in human tumors: Difficulties,
methods and results. Europ.J.Cancer 1:161-72 (1965).
- (8) Brock, N. und Hohorst, H.J.:
Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus von Endoxan.
Verhandl. Intern. Kongr. Chemother. Stuttgart 1963,
Band II, 1089-1091, (Thieme 1964).
- (9) Brock, N. und Hohorst, H.J.:
Metabolism of Cyclophosphamide. Cancer 20:900-904
(1967).
- (10) Brockmann, H.:
Aktinomycine. Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe
18:1-54 (1960).
Brockmann, H. und Boldt, P.:
Die Aminosäuresequenz von Actinomycin C 3
Naturwiss. 46:262 (1959).
Brockmann, H.:
Actinomycine. Hoppe Seyler, Physiol. Chem. 343:86-100.
Brockmann, H.:
Actinomycine. Chem. Ber. 99:717-23 (1966).
- (11) Bujard, H. und Heidelberger, C.:
Fluorinated pyrimidines. 27. Attempts to determine
transcription errors during the formation of
Fluorouracil- containing messenger ribonucleic acid.
Biochemistry (Wash) 5:3339-45 (1966).
- (12) Castoldi, G.L. und Malacarne, P.:
Aspects cytochimiques et cytogénétiques du gigantisme
cellulaire provoqué par les antimétabolites.
Nouv. Rev. Franc. Hémat 4:395-408 (1964).
- (13) Chakravorty, M.:
Induction and repression of L-arabinose isomerase
in Lactobacillus plantarum. Biochem. Biophys. Acta
85:152-61 (1964).
- (14) Colowick and Kaplan:
Methods in Enzymology, Vol I, 223 (Academic Press)
New York, 1955.

- (15) Dold, U.; Mielsch, M. und Holzer, H.:
DPN-Gehalt, Nukleinsäuregehalt und Zellstruktur
von Ascites-Tumorzellen nach Einwirkung alkylie-
render Zytostatika. Z. Krebsforsch. 65:139-146
(1962).
- (16) Erickson, R.J.:
Lactic Dehydrogenase Activity of Effusion Fluids
as an Aid to Differential Diagnosis. J. Amer. Med.
Ass. 173:794-796 (1961).
- (17) Frederiksz, P.A.:
Enzymbestimmungen bei Testis-Tumoren
Nederl. Tijdschr. Geneesk 108:2193 (1964).
- (18) Galasinski, W.:
Influence of Actinomycin-D on the induced biosynthe-
sis of thryptophanoxidase. Bull. Acad. Pol. Sci.
15:69-72.
- (19) Gartler, S.M.; Ziprkowski, L.; Krakowski, A. et al.:
G-6-PDH mocaism as a tracer in the study of hereditary
multiple trichoepithelioma. Amer. J. Hum. Genet.
18, No3 (1966).
- (20) Gault, M.H.:
Urinary enzymes in benign and malignant urinary
tract disorders: Alkaline phosphatase and lactic
acid dehydrogenase. Brit. J. Urol. 39:296-306 (1967).
- (21) Gerhardt, W. et al.:
Lactatedehydrogenase isoenzymes in the diagnosis
of human benign and malignant brain tumors. J. Nat.
Cancer Inst. 38:343-57 (1967).
- (22) Gerlich, N.:
Gefahren der zytostatischen Therapie.
Strahlentherapie 41 SB, 112-115 (1959).
- (23) Girard, M.:
The effect of actinomycin on ribosome formation
in He La cells. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 51:
205-11 (1964).
- (24) Giudice, G.:
Effect of actinomycin D on the synthesis of DNA
polymerase in hepatectomized rats. Biochem.
Biophys. Res. Commun. 12:383-7.

- (25) Goldenberg, D.M.; Witte, S. und Müller, E.:
Über fortgesetzte Transplantation eines menschlichen Ovarialcarcinoms im syrischen Goldhamster. Z. Krebsforsch. 67:221-223 (1965).
- (26) Goldenberg, D.M.; Witte, S.; Wüst, H. und Goldenberg, H.:
Effect of Actinomycin C on Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Activity of a Human Adenocarcinoma Growing in a Heterologous Host. Antimicrobial Agents and Chemother. 5:524-30 (1966).
- (27) Goldenberg, D.M.; Witte, S.; Hindringer, B. und Hartmann, G.:
Zur experimentellen Chemotherapie eines menschlichen Adenocarcinoms in der Backentasche des Goldhamsters: Die Wirkungen von Actinomycin C. Arzneimittelforschung 16:808-812 (1966).
- (28) Goldenberg, D.M.; Witte, S. und Elster, K.:-
Ein neuer, heterolog transplantierbarer Human-Tumor, GW-39, als Testsystem für chemotherapeutische Versuche. Krebsforschung und Krebsbekämpfung 6, 156-160 (1967).
- (29) Goldenberg, D.M. und Witte, S.:
Chemotherapy of two morphologically similar human tumours growing in the cheek pouch of the golden hamster. Europ.J.Cancer 3,95 (1967).
- (30) Goldenberg, D.M.; Witte, S. und Elster, K.:
GW-39: A new human tumor serially heterotransplantable in the golden hamster. Transplant.4: 760-65 (1966).
- (31) Goldenberg, D.M.; Witte, S. und Ernstberger, W.:
Tumour Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Inhibition by Actinomycin. Experientia 23:920 (1967).
- (32) Goldmann, R.D.; Kaplan, N.O. und Hall, T.C.:
Lactic dehydrogenase in human neoplastic tissues. Cancer Res. 24: 389-99 (1964).
- (33) Goodfriend, T.L. und Kaplan, N.O.:
Effects of Hormon Administration on Lactic Dehydrogenase. J.Biol.Chem.239:130-135 (1964).
- (34) Greiling, H.:
Untersuchungen über die Substratspezifität der Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase. Hoppe Seyler, Z. Physiol.Chem. 341:172-84 (1965).

- (35) Grella, P.:
Über den Wirkungsmechanismus von Cyclophosphamid:
Hemmung der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase.
Arch. Ital. Clin. Tumori. 6:131-136 (1963).
- (36) Grella, P.:
Reaktion der Glucose-6-PDH im Serum bei Cyclophosphamid-Therapie gynäkologischer Tumoren.
Att. Ostet. Ginec. 9:846-848 (1963).
- (37) Grella, P.:
Das Verhalten der Serumenzyme während der zytostatischen Therapie mit Cyclophosphamid.
Att. Ostet. Ginec. 9:831-834 (1963).
- (38) Gudbjarnason, S.:
Increase in hexosemonophosphate shunt activity during tissue repair. Life Sci. 6:1093-7 (1967).
- (39) Hackmann, CHR.:
Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung von Actinomycin C (HBF 386) bei bösartigen Geschwülsten. Z. Krebsforsch. 58:607- (1952).
- (40) Habers, E.:
Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus der Actinomycine. Biochem. Z. 337:224 (1963).
- (41) Heckmann, U. und Tranekjer, A.S.:
Frühveränderungen an Interphasenzellen von weiblichen Genitalkarzinomen nach Proresid (SP-I Sandoz). Z. Krebsforsch. 6:133-137 (1967).
- (42) Heidelberger, C.; Leibman, K.C.; Habers, E. und Bhargava, P.M.:
The Comparative utilization of uracil-2-C14 by liver, intestinal mucosa and Flexner-Jobling carcinoma in the rat. Cancer Res. 17:399 (1957).
- (43) Helgeland, K. und Reistad, R.:
Effect of actinomycin D in tissue culture cells: An altered DNA distribution after extraction with phenol or chloroform butanol. Biochim. Biophys. Acta. 145:214-217 (1967).
- (44) Hilf, R.; Michel, J.; Bell, C.; Freemann, J.J. und Bormann, H.:
Biochemical and Morphological Properties of a New Lactating Mammary Tumor Line in the Rat. Canc. Res. 25:286 (1965).

- (45) Hilz, H.; Hubmann, B.; Oldekop, M.; Scholz, M. und Gossler, M.:
Die Wirkung von Röntgenstrahlen und zytostatischen Verbindungen auf DPN-Gehalt und DNS-Synthese in Ascitestumorzellen. Biochem.Z. 336:62-76 (1962).
- (46) Hölzel, F.; Maass, H. und Schmack, W.:
Studien zum Einfluß von Röntgenstrahlen und Trisäthylennitrobenzochinon auf den Stoffwechsel von Yoshida-Aszites-Sarkomzellen. Strahlenther. 119:194-208 (1962).
- (47) Holzer, H. und Hierholzer, G.:
Hemmung der Synthese von DPN-abhängiger Glutamat-dehydrogenase in Hefe durch Actinomycin C. Biochim.Biophys. Acta. 77:329-31 (1963).
- (48) Horecker, B.L.:
Pathways of Carbohydrate Metabolism and Their Physiological Significance. J. Chem. Education. 42:244 (1955).
- (49) Humphreys, S.R.; Thomas, L.B. et al.:
Anwendung von Dihydrofolsäure Reduktase als biochemischer Index für die Chemotherapie. Nature 195:453-455 (1962).
- (50) Kersten, W.:
Action of nucleic acids on the inhibition of growth by actinomycin of Neurospora crassa. Nature. 187:60 (1960).
- (51) Kessler, F.J. und Blumenberg, F.W.:
Experimenteller Beitrag zum Verhalten der Lactat-Dehydrogenase-Aktivität im Blutserum bei der Chemotherapie bösartiger Tumoren mit Endoxan. Arzneim.Forsch. 11:188-190 (1961).
- (52) Kit, S.:
Effects of 5-fluorouracil, actinomycin D and mitomycin C on the induction of thymidine kinase by vaccinia infected L-cells. J.Molec.Biol. 7:497-510 (1963).
- (53) Kleine, T.O.:
Enzymmuster benigner und maligner Veränderungen menschlicher Gewebe. Enzymuntersuchungen an menschlichen Tumoren III. Klin.Wschr. 44:887-895 (1966).

- (54) Leader, D.P. und Barry, J.M.:
Increase in vitro in Glucose-6-Phosphate
Dehydrogenase Activity in Mouse Mammary Tissue.
Biochem. J. 108:27 (1968).
- (55) Limburg, H. und Krahe, M.:
Erfahrungen und experimentelle Ergebnisse bei
der Chemotherapie gynäkologischer Karzinome.
Med.Welt. 20:1112-1115 (1963).
- (56) Linder, D. und Gartler, S.M.:
Glucose-6-phosphate dehydrogenase mosaicism:
Utilization as a cell marker in the study of
leiomyomas. Science. 150:67-69 (1965).
- (57) Liss, E. et al.:
Unterschiede im Wirkungsmechanismus verschiedener
alkylierender Zytostatika. Krebsforsch. Krebsbe-
kämpf. 6:145-51. (1967).
- (58) Löhr, G.W.:
Beitrag zum Wirkungsmechanismus des zyklischen
N-Lost-Phosphamid-esters Endoxan auf den Tumorstoff-
wechsel. In: Chemotherapie malign. Tumoren. 2. Biele-
felder Symposion 18.4.1959 (Herausg.: H. Wilmanns),
Schattauer Verl. Stuttgart 1960.
- (59) Maass, H.:
Über den Wirkungsmechanismus von Röntgenstrahlen und
zytostatischen Substanzen in Tumorzellen. Zbl.Gynäk.
85:209-16. (1963).
- (60) Matsumura, T.:
Enzyme histochemistry of experimentally induced
tumors in the mouse submaxillary and sublingual
glands during carcinogenesis. Gann. 57:251-63 (1966).
- (61) Melvin, J.B.:
The effect of actinomycin-D on mitosis in regenerating
mouse liver. Exper. Cell. Res. 45:559-569 (1967).
- (62) Merten, R. und Solbach, H.G.:
Serumenzyme bei Tumoren. Klin.Wschr. 39:222 (1958).
- (63) Moukter, M.:
The early diagnosis of carcinoma of the femal genital
tract. Vaginal fluid 6-PGDH activity as a test for
carcinoma of the cervix. J.Obstet.Gyn.Brit.Cwlth.
72:677-83, 684-90. (1965).

- (64) Mori, M. et al.:
Histochemical observations of succinic, malic and lactic dehydrogenase in oral tumors. Oral Surg. 17:352-63 (1964).
- (65) Müller, D.:
Die Aktivität der alkalischen Leukozytenphosphatase unter zytostatischer Stoßtherapie beim Malignomkranken. Med.Klin. 59:7-9 (1964).
- (66) Nerini, V. und Vaglio, L.:
Das Verhalten der Leukozyten-Peroxydase während der Behandlung mit Cyclophosphamid. Giorn.Ital.Chir. 18:905-914 (1962).
- (67) Nissen, Nis.L. und Böhn, L.:
Patterns of Lactic Acid Dehydrogenase Isoenzymes in Normal and Malignant Human Tissues. Europ. J. Cancer 1:217.
- (68) Osten, W.:
Kontrolle der Tris-Therapie durch das Laboratorium. Chemther. Probleme mal. Tumoren, Kolloquium 6.5.1960: 200-206.
- (69) Paeschke, K.D.:
Zytologische und Enzymuntersuchungen in vitro und in vivo zur Diagnostik von Zellpopulationen gynäkologischer Tumoren und von Atypien zur Erkennung ihrer prospektiven Potenz. Krebsforsch. Krebsbekämpf. 6:161-165 (1967).
- (70) Pichlmayer, R.:
Zur Frage der Lebertoxizität hoher Endoxan-Dosen, experimentelle und klinische Untersuchungen. Klin.Wschr. 43:543-546 (1965).
- (71) Pirwitz, J.:
Der heutige Stand der Chemotherapie neoplastischer Erkrankungen beim Menschen. Klin.Wschr. 35:440 (1957).
- (72) Pitot, H.C.; Peraino, C.; Pries, N. und Kennan, A.L.:
Template stability in liver and hepatoma. Advances Enzym Regulat. 3:359-68 (1965).
- (73) Pitot, H.C. et al.:
Template stability of some enzymes in Rat Liver and Hepatoma. Proc.Nat.Acad.Sci. USA. 54:845-851 (1965).

- (74) Pitot, H.C.:
Substrate and hormonal interactions in the regulation of enzyme levels in Rat Hepatoma. In: Symposion On Regulat. of Enzyme Activity. (Pergamon Press) (1963).
- (75) Pohl, J. und Paeschke, K.D.:
Experimentelle Befunde zur Proresid-Wirkung. 2.Rothenburger Gespräch 15.6.1966 (Schattauer Verlag) Stuttgart. (1967).
- (76) Pollock, M.R.:
The differential effect of actinomycin-D on the biosynthesis of enzymes in Bac. subtilis and Bac. cereus. Biochim.Biophys.Acta. 76:80-93 (1963).
- (77) Pütter, J.:
Stoffwechselwirkungen von Äthyleniminochinonen. Arzneimittel-Forsch. 10:8-12 (1960).
- (78) Pütter, J. und Bierling, R.:
Über Beziehungen zwischen der Beeinflussung des Energiestoffwechsels und der Wachstumshehmung der Tumorzellen durch Trenimon. Med. und Chem. 7:679-700 (1963).
- (79) Rabinowitz, Y.:
Genetic control of lactate dehydrogenase and malate dehydrogenase isozymes in cultures of lymphocytes and granulocytes: Effect of addition of phytohemagglutinin, actinomycin-D or puromycin. Biochim. Biophys. Acta. 139:254-64. (1967).
- (80) Rabinowitz, Y. und Dietz, H.:
Malic and Lactic dehydrogenase isozymes of normal and leukemic leukocytes seperated on glass bead columns. Blood 29:182-95 (1967).
- (81) Rathgen, G.H. und Humke, W.:
Die Desoxyribonuklease-Aktivität in einigen Rattenorganen nach Behandlung mit zytostatisch wirkenden Substanzen. Naturwiss. 50:128 (1963).
- (82) Rauen, H.M.; Kersten, H. und Kersten., W.:
Zur Wirkung von Actinomycinen. Hoppe Seyler Z. Physiol.Chem. 327:234 (1962).

- (83) Rutman, R.J.; Cantarow, A. und Paschkis, K.E.:
Studies on 2-acetylaminofluorene carcinogenesis;
utilization of uracil-2-C 14 by preneoplastic rat
liver and rat hepatoma. Cancer Res. 14:119-123.
(1954).
- (84) Schmidt, C.G.:
Der derzeitige Stand und Wirkungsmechanismus der
Zytostatikabehandlung. Krebsforsch. Krebsbekämpf.
6:309-338. (1967).
- (85) Sie Hsien-Gieh und Fishman, W.H.:
Stimulation of Penzose Phosphate Pathway Dehydrogenase
Enzyme Activities in Ethionine-Treated. Mice. Biochem.
J. 106:769. (1968).
- (86) Sipus, N.; Padovan, J. und Lipozencic, M.:
Submikroskopische Veränderungen der menschlichen
Krebszellen unter Einwirkung von SP-I und SP-G Sandoz.
Oncologia 20:276-290. (1966).
- (87) Südhof, H. und Wötzel, E.:
Einfluß der Temperatur auf die Enzymaktivitäten.
Klin.Wschr. 38:1165. (1960).
- (88) Sullivan, B.J. und Wechsler, H.J.:
The cytologocal effects of Podophyllin. Science.
105:433. (1947).
- (89) Vesell, E.S.:
pH dependence of LDH-isozyme inhibition by substrate.
Nature 210:421-22. (1966).
- (90) Waksmann, S.A. und Woodruff, H.B.:
Bacteriostatic and Bactericidal Substances Produced
by a Soil Actinomyces. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.
45:609. (1940).
- (91) Warburg, O.:
On the origin of cancer cells. Science 123:309-314.
(1956).
- (92) Weber, G.; Singhal, R.L. et al.:
Behaviour of hepatic gluconeogenetic enzymes, RNA
metabolism and amino acid level in rats carrying
transplantable ACTH secreting pituitary tumors.
Endocrin. 76:902-909. (1965).

- (93) Weber, G.:
Role of enzymes in homeostasis.V: Actinomycin and puromycin inhibition of cortisone-induced synthesis of Hepatic glucose-6-phosphate and fructose-1, 6-diphosphate. J. Biol. Chem. 239:521-6. (1964).
- (94) Werchau, H. und Kröger:
Einfluß von Actinomycin auf den RNS Stoffwechsel. Antikörperbildende Milzzellen in vitro. Biochem.Z. 342:387; Biochem.Z. 341:184-189. (1965).
- (95) Widy, K.:
Succinic, lactic, and G-6-PDH in precancerous and cancerous stages in the uterine cervix. Acta Cytol. (Balt.) 11:231-5. (1967).
- (96) Witte, S. und Goldenberg, D.M.:
Chemotherapeutische Studien an menschlichen Tumor-transplantaten in der Hamsterbackentasche. Verhandl.Dtsch.Gesell.inn.Med. 72. Kongreß 1966.
- (97) Yasin, R. und Bergel, F.:
Lactate Dehydrogenase Isoenzyme Patterns in Human Normal and Malignant Gastric Mucosa. Europ. J. Cancer. 1:293.

Lebenslauf

- 5.9.1941 geb. in Amberg/Opf. als Sohn des Studienassessors Dr. Alfred Ernstberger und seiner Ehefrau Magdalena Ernstberger geb. Dorfner.
- 1947-1951 Besuch der 1. bis 4. Klasse der Volksschule in Hirschau/Opf.
- 1951-1953 Besuch der 1. und 2. Klasse der Oberrealschule Amberg/Opf.
- 1953-1960 Besuch der 3. bis 9. Klasse des Deutschen Gymnasiums Amberg/Opf.
- 13.7.1960 Reifeprüfung am Deutschen Gymnasium Amberg/Opf.

Studium der Mathematik/Physik:

- WS. 1960/61 und SS. 1961 Besuch der Universität Erlangen-Nürnberg;
- WS. 1961/62 Besuch der Universität Marburg.

Studium der Medizin:

- SS. 1962 bis SS. 1964 Besuch der Universität Erlangen-Nürnberg;
- 10.3.1963 naturwissenschaftliche Vorprüfung;
- 7.8.1964 ärztliche Vorprüfung;
- WS. 1964/65 Besuch der Universität Wien;
- SS. 1965 bis SS. 1967 Besuch der Universität Erlangen-Nürnberg;
- 13.2.1968 Staatsexamen an der Universität Erlangen-Nürnberg.

Erlangen, den 3.10.1968

Wolfgang Ernstberger

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
